Originals

Cefodizime sodiumの急性毒性試験

和田 直人, 森岡 浩, 稲津 水穂
宮本 政樹, 小林 孝好, 坂口 孝
中野 茂樹*, 桑田 雅彦*, 矢田 英昭*

ヘキストジャパン株式会社 医薬研究開発本部 生物研究部

*大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所

**ACUTE TOXICITY STUDY OF
CEFODIZIME SODIUM**

Naoto WADA, Hiroshi MORIOKA, Mizuho INAZU, Masaki MIYAMOTO,
Takayoshi KOBAYASHI, Takashi SAKAGUCHI, Shigeki NAKANO*,
Masahiko KUWATA* and Hideaki YADA*

Pharma Research and Development Division, Hoechst Japan Limited

1 - 3 - 2 Minamidai, Kawagoe-shi, Saitama 350, Japan

*Drug Safety Laboratory, Taiho Pharmaceutical Co., Ltd.

224 - 2 Ebisuno, Hiraishi, Kawauchi-cho, Tokushima 771-01, Japan

Accepted March 9, 1988

Abstract.....Acute toxicity of cefodizime sodium (THR-221) was examined in mice of both sexes, rats of both sexes (including 5-day-old young), and male dogs.

The LD₅₀ values of THR-221 (mg/kg) were as follows : (1) mice : intravenous, 7200 for males and 5000 for females ; intraperitoneal, 10500 for males and 11000 for females ; subcutaneous, 17500 for males and 16500 for females ; and oral, 28000 for males and 29000 for females. (2) rats (adult) : intravenous, 7000 for males and 8200 for females ; intraperitoneal, 9500 for males and 8800 for

連絡先：☎350 埼玉県川越市南台 1 - 3 - 2

ヘキストジャパン株式会社 医薬研究開発本部 生物研究部 和田 直人

☎771-01 *徳島県徳島市川内町平石字夷野224-2

大鵬薬品工業株式会社 研究開発本部 安全性研究所 矢田 英昭

females ; subcutaneous, 17000 for males and 15500 for females ; oral, more than 20000 for both sexes ; and intramuscular, more than 3200 for both sexes. (3) 5-day-old rats : subcutaneous, 5278 for males and 5314 for females. (4) male dogs: intravenous, more than 5000.

Major changes in general conditions observed in mice and rats were decreased spontaneous activity, lying prone, respiratory changes, staggering gait, clonic or clonic-tonic convulsions, and cyanosis, and in the animals dosed orally, diarrhea or salivation was also noted. The changes in 5-day-old rats were respiratory changes, agony, loss of reflex to an external stimulus, and congestion at the injection site, and those in dogs were vomiting, dryness of the nose, and soft or mucous stools.

Autopsies on the mice and rats which died revealed hemorrhage on the brain surface. In addition, the following were seen : intraperitoneal retention of fluid and dark red spots on the abdominal wall (i.p.), subcutaneous retention of fluid or jellylike material and hemorrhage at the injection site (s.c.), and retention of fluid and dark red spots on the mucosa in the digestive tract (mice p.o.). In 5-day-old rats which died, the subcutaneous tissue at the injection site showed hemorrhage macroscopically and inflammatory changes microscopically.

Hematological and blood chemical tests performed in dogs showed an increase in white blood cells and changes suggesting anemia, increases in GOT, LDH and ALP activities, and slight changes in urea nitrogen and inorganic phosphorus. In one animal given a low dose of 2500 mg/kg, an increase in GPT activity was also seen. However, these changes were all transient. Microscopic findings in dogs were slight inflammatory changes in the subcutaneous tissue around the injection site.

Key words : Antibiotic, cefodizime sodium, THR-221, acute toxicity, mouse, rat, beagle dog.

緒 言

Cefodizime sodium (以下THR-221と記す) は、ドイツ連邦共和国ヘキスト社とフランスルセル社共同で新規開発された注射用セフェム系抗生物質である。

今回、著者らは本剤のマウス、ラット、幼若ラットおよびイヌにおける急性毒性作用について検討したので報告する。

実験材料および方法

1. 被験物質

実験には、ヘキスト社で合成されたTHR-221を用いた。本化合物は、分子式 $C_{20}H_{18}N_6Na_2O_7S_4$ 、化学名disodium(-)-(6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-amino-4-thiazolyl)-2-methoxyiminoacetamido]-3-[[[5-(carboxylatomethyl)-4-methyl-2-thiazolyl]thio]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0] oct-2-ene-2-carboxylate、分子量628.64で水に極めて溶けやすく、メタノールに溶け

やすく、エタノール、アセトン、酢酸エチル、エーテル、クロロホルムにほとんど溶けない白色～淡黄白色の結晶性粉末で、臭いはないかまたは僅かに特異な臭いを有する。化学構造式は、Fig. 1 に示した。

Fig. 1 Chemical structure of cefodizime sodium (THR-221)

2. 使用動物および飼育条件

日本クレア(株)より購入したICR系マウス, Sprague Dawley系ラットおよびLaboratory Research Enterprisesより購入したビーグル犬を用い, マウス, ラットはいずれも1週間以上, イヌは約1ヵ月間予備飼育した後, 順調な発育を示したものを選り実験に供した。すなわち, 実験開始時6週齢のマウス(体重: 雄27.8~35.0g, 雌21.5~28.6g), ラット(体重: 雄150~200g, 雌130~178g) および7ヵ月齢, 体重8.33~9.61kgの雄性ビーグル犬を用いた。なお, 幼若ラットは, 10週齢のSprague Dawley系ラットを交配させ得た5日齢のラット(体重: 雄8.7~14.9g, 雌6.5~14.2g)を実験に供した。一群の動物数はマウス, ラットは10例, 幼若ラットは8例, イヌは3例とした。動物は予備飼育および実験期間を通じて室温 $23 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 相対湿度 $55 \pm 10\%$, 12時間照明に設定した動物室で, マウス, ラットはホワイトフレイク® またはベータチップ® (いずれも日本チャールス・リバー(株)製)を床敷としたポリカーボネート製ケージで, イヌはステンレス製ケージで飼育した。なお, マウスは2匹ずつ, ラット, イヌは個別に, 幼若ラットは母獣と共に雌雄4匹ずつ飼育し, マウス, ラットには固型飼料(CE-2またはCA-1, 日本クレア(株))と水道水を自由に摂取させ, イヌには固型飼料(CD-5, 日本クレア(株))を1日300gと水道水を自由に摂取させた。

3. 投与および実験方法

1) 投与方法

薬物は経口投与時は注射用蒸留水に, 非経口投与時(静脈内, 腹腔内, 皮下, 筋肉内)には生理食塩液に溶解し, メンブランフィルターで濾過滅菌した。マウス全投与経路, ラット静脈内, 腹腔内, 皮下投与ではTable 1, 2に示した各投与用量となるように投与容量を変えて投与し, ラット経口, 筋肉内投与およびイヌ静脈内投与では, それぞれ生理的技術的に投与可能と考えられる最大容量とその1/2量を投与した。また, 幼若ラットでは, 大量の静脈内投与は技術的に困難であると考えられたため投与経路は皮下とし, Table 3に示した各投与量を投与した。

なお、マウス、ラットの静脈内投与では1 ml/min. の速度で尾静脈内に、イヌでは10～15 ml/min. の速度で前腕皮静脈内に投与した。また、皮下投与は、マウス、ラット、幼若ラットともに背部皮下に、経口投与は非絶食下で胃ゾンデを用いて投与した。ラット筋肉内投与では、高用量群は両側の大腿部に、低用量群は片側の大腿部に二段針を用いて投与した。

2) 実験方法

① マウス、ラットおよび幼若ラット

薬物投与後、いずれの動物とも14日間にわたり一般状態の変化ならびに体重の推移を観察し、LD₅₀値は14日間の累積死亡率から Litchfield-Wilcoxon 法または Probit 法により算出した。死亡例はできるだけ速やかに、生存例は実験最終日にエーテル麻酔死させ剖検した。なお、幼若ラットでは剖検時に異常の見られた投与部皮下を一部の例について、10% 緩衝ホルマリン液で固定後、型のごとくパラフィン包埋、hematoxylin-eosin 染色標本を作製し病理組織学的検索を実施した。

② イヌ

薬物投与後、いずれの動物とも14日間にわたり一般状態の変化ならびに体重および摂餌量を観察測定すると共に、以下の臨床検査を実施した。

(1) 尿検査

投与後約 8, 24 および 72 時間後に採尿ユニットを用いて新鮮尿を採取し、色調、比重、pH、蛋白、糖、ケトン体、潜血、ビリルビンおよびウロビリノーゲンの定性的検査をマルチスティックス® (マイルス・三共) により行った。

(2) 血液学的検査

投与前および投与後1, 4, 8, 24, 72時間後に、前腕皮静脈から採取したEDTA-2 K加血液を用いて、赤血球数・白血球数・血小板数・Ht値・Hb量・MCV・MCH・MCHC (ELT-8 hematology analyzer)、網状赤血球数 (Brilliant cresyl blue 染色)、白血球百分率 (Wright-Giemsa 染色) について検査した。

(3) 血液生化学的検査

投与前および投与後1, 4, 8, 24, 72時間および7日後に、前腕皮静脈から採取した血液から、バキュティナSST® (Becton Dickinson社) を用いて血清を分離し、GOT・GPT活性 (GSCC法)、LDH活性 (Wróblewski-La Due法)、ALP活性 (Kind-King変法)、コリンエステラーゼ活性 (Δ pH法)、 γ -GTP活性 (L- γ -glutamyl-p-N-hydroxyethylaminoanilide基質法)、血糖値 (酵素法)、総コレステロール量・遊離コレステロール量 (酵素法)、コレステロール・エステル比 (算出)、総蛋白量 (Biuret法)、アルブミン量 (算出)、A/G比・蛋白分画 (電気泳動法)、総ビリルビン量 (Jendrassik-Cleghorn法)、尿素窒素量 (urease-indophenol変法)、クレアチニン量 (Jaffé法)、尿酸値 (酵素法)、Ca⁺⁺量 (OCPC法) および無機リン量 (molybdenum blue法) についてオートアナライザー (日立726型) を用いて検査した。なお、GPT活性は一部の例については投与後14日目も測定した。

(4) 病理学的検査

Acute toxicity study of cefodizime sodium

実験最終日に、全例をラボナール®（田辺製薬）麻酔下で放血致死させ剖検し、大脳、小脳、下垂体、胸腺、肺、心臓、肝臓、脾臓、腎臓、副腎および精巣重量を測定した後に異常部位と共に、10%緩衝ホルマリン液で固定後、型のごとくパラフィン包埋、hematoxylin-eosin染色標本作製し病理組織学的検索を実施した。

実験成績

マウス、ラット、幼若ラット、イヌの各投与経路における実験成績はTable 1～4に総括して示した。

1. マウス

1) LD₅₀値

静脈内投与時；雄7200 (6260－8280) mg/kg, 雌5000 (4410－5680) mg/kg, 腹腔内投与時；雄10500 (9722－11340) mg/kg, 雌11000 (9565－12650) mg/kg, 皮下投与時；雄17500 (15542－19705) mg/kg, 雌16500 (14474－18810) mg/kg, 経口投与時；雄28000 (25480－30769) mg/kg, 雌29000 (26852－31320) mg/kgであった (Table 1)。

2) 一般状態

静脈内投与では、投与直後から自発運動の減少が見られ始め、さらに死亡例と一部の生存例では腹臥、あえぎ呼吸、間代性痙攣および失調性歩行が観察された。そして、死亡例の多くはこれらの症状から回復することなく投与後10から30分以内に死亡した。残余の死亡例は、一時的に回復傾向を示したものの、投与後2時間から4日目の間に自発運動の減少および腹臥あるいは立毛を示し死亡した。

腹腔内投与では、投与直後から30分後の間に自発運動の減少が見られ始め、その後、中間用量群の死亡例は腹臥および緩徐な呼吸を示し、投与後4時間から翌日までの間に死亡した。また、高用量群の死亡例は上述の症状に加えて、チアノーゼあるいは間代性－強直性痙攣を示し、投与後10分から6時間に死亡した。

皮下投与では、投与後30分より自発運動の減少および腹臥が見られ始めた。そして、死亡例はこれらの症状に加えて緩徐な呼吸を示し、ほとんどの例は投与後2から6時間の間に、残余の例は投与翌日までに死亡した。

経口投与では、投与直後から30分後の間に自発運動の減少が見られ始め、続いて中間用量以上では下痢も観察された。そして、ほとんどの死亡例はこれらの症状に加え腹臥、緩徐な呼吸を示し、さらに高用量群の動物では間代性－強直性痙攣あるいはチアノーゼ、体の冷感が認められ投与後60分から翌日までに死亡した。

一方、生存例で見られた症状は、静脈内投与の一部の例に投与後7日目前後まで観察された自発運動の減少あるいは立毛を除いて、ほとんどの動物で投与翌日までには消失し、正常状態に回復した。

3) 体重の推移

静脈内投与の雄では投与翌日、最低用量群を除く各群の多数例に、雌では投与翌日に各

Table 1 Acute toxicity of THR-221 in mice

Route	Dose (mg/kg)	Concentration (%)	Vehicle	Mortality (Dead/treated)		LD ₅₀ (mg/kg)	
				Male	Female	Male	Female
i. v.	2000	25	P. S.	—	0/10	7200 (6260—8280)	5000 (4410—5680)
	3000			—	0/10		
	4000			0/10	4/10		
	5000			2/10	5/10		
	6000			2/10	9/10		
	6500			—	8/10		
	7000			3/10	9/10		
	8000			7/10	9/10		
	9000			10/10	10/10		
i. p.	7000	25	P. S.	—	1/10	10500 (9722—11340)	11000 (9565—12650)
	8000			0/10	2/10		
	9000			0/10	0/10		
	10000			4/10	1/10		
	12000			9/10	9/10		
	16000			10/10	10/10		
s. c.	10000	25	P. S.	0/10	2/10	17500 (15542—19705)	16500 (14474—18810)
	13000			1/10	0/10		
	15000			4/10	0/10		
	16000			1/10	3/10		
	17000			4/10	—		
	18000			10/10	6/10		
	20000			—	8/10		
p. o.	20000	40	D. W.	0/10	0/10	28000 (25480—30769)	29000 (26852—31320)
	25000			0/10	0/10		
	27000			2/10	1/10		
	30000			7/10	6/10		
	35000			8/10	10/10		
	40000			10/10	10/10		

The LD₅₀ values were calculated by the method of Litchfield and Wilcoxon. Figures in parentheses represent the 95% confidence limits.

P.S.: Physiological saline D.W.: Distilled water

群とも大多数の動物に、2日目には中間用量以上の半数ないし全例に体重減少あるいは増加抑制が見られた。その後も一部の動物では暫時体重減少が見られたが、実験終了時にはほぼ順調な体重増加を示していた。

腹腔内投与では、雌雄とも中間用量以下では半数ないし多数例に、高用量群では大多数に、一過性の体重減少あるいは増加抑制が見られた。その後も一部の動物では暫時体重減少が見られたが、実験終了時にはほぼ順調な体重増加を示していた。

皮下投与では、投与翌日に、雄では用量と相関なく少数例ないし全例に、雌では中間用量以下では少数ないし半数例に、高用量群では全例に体重減少が見られた。しかしながら、

Acute toxicity study of cefodizime sodium

投与2日目には雌雄とも用量と相関なく少数ないし半数例に体重減少を認めるのみで、その後は順調な体重増加を示した。

経口投与では、中間用量以下では約半数例に、高用量群では大多数ないし全例に、投与翌日に一過性の体重減少あるいは増加抑制が見られたのみで、その後はほぼ順調な体重増加を示した。

4) 剖検所見

静脈内投与の死亡例では、肺の充血と一部の動物に脳表面の出血が見られた。

腹腔内投与の死亡例では、脳表面の出血および腹腔あるいは胸腔内液体貯留、腹腔内壁の暗赤色点散在が観察された。

皮下投与の死亡例では、脳表面の出血、投与部皮下の寒天状物の貯留および出血が認められた。

経口投与の死亡例では、脳表面の出血、消化管内の液体貯留、胃および十二指腸粘膜面の暗赤色斑、胃内容物の血液付着が観察された。

一方、生存例では、皮下投与の極く一部の動物に盲腸の拡張が見られた。

2. ラット

1) LD₅₀値

静脈内投与時；雄7000 (6430－7620) mg/kg, 雌8200 (7350－9140) mg/kg, 腹腔内投与時；雄9500 (8559－10545) mg/kg, 雌8800 (8302－9328) mg/kg, 皮下投与時；雄17000 (15320－18870) mg/kg, 雌15500 (14090－17050) mg/kg, 経口投与時；雌雄共20000mg/kg以上, 筋肉内投与時；雌雄共3200mg/kg以上であった (Table 2)。

2) 一般状態

静脈内投与では、投与直後から自発運動の減少が見られ始め、さらに中間用量以上では、失調性歩行あるいは腹臥が観察された。そして、死亡例はこれらの症状に加えて間代性一強直性痙攣、チアノーゼ、あえぎ呼吸を示し、投与後10分から4時間以内に死亡した。

腹腔内投与では、投与直後から60分までの間に自発運動の減少が見られ始め、さらに、ほとんどの死亡例は腹臥、間代性一強直性痙攣、あえぎ呼吸あるいは緩徐な呼吸、チアノーゼを示し、投与後30分から4時間の間に死亡した。

皮下投与では、投与後10分頃より自発運動の減少が見られ始めた。そして、多くの死亡例はこの症状に加えて腹臥、失調性歩行、あえぎ呼吸およびチアノーゼを示し、さらに、高用量群の動物は間代性痙攣を伴い投与後60分から6時間の間に死亡した。また、一部の動物は自発運動の減少、腹臥、緩徐な呼吸あるいは立毛を呈したまま、投与翌日から3日目に死亡した。

経口投与では、投与直後から10分後の間に自発運動の減少が見られ始め、さらに、少数例では失調性歩行あるいは流涎が観察された。そして、投与後3日目に1例が死亡した。

筋肉内投与では、投与直後より全例が跛行を示し始めたが、投与10分後には消失した。その他の一般状態の変化は何ら観察されず、死亡例も認められなかった。

Table 2 Acute toxicity of THR-221 in rats

Route	Dose (mg/kg)	Concentration (%)	Vehicle	Mortality (Dead/treated)		LD ₅₀ (mg/kg)	
				Male	Female	Male	Female
i. v.	3000	25	P. S.	0/10	0/10	7000 (6430—7620)	8200 (7350—9140)
	5000			0/10	0/10		
	6000			1/10	—		
	7000			5/10	2/10		
	8000			9/10	5/10		
	9000			—	6/10		
	10000			—	10/10		
i. p.	8000	25	P. S.	0/10	0/10	9500 (8559—10545)	8800 (8302—9328)
	8500			—	3/10		
	9000			4/10	8/10		
	9500			5/10	9/10		
	10000			9/10	9/10		
	12000			—	10/10		
	14000			9/10	9/10		
s. c.	16000	25	P. S.	10/10	10/10	17000 (15320—18870)	15500 (14090—17050)
	13000			0/10	0/10		
	15000			2/10	4/10		
	17000			5/10	7/10		
p. o.	19000	40	D. W.	10/10	10/10	>20000	>20000
	10000			0/10	0/10		
i. m.	20000	40	P. S.	0/10	1/10	>3200	>3200
	1600			0/10	0/10		
	3200			0/10	0/10		

The LD₅₀ values were calculated by the method of Litchfield and Wilcoxon.

Figures in parentheses represent the 95% confidence limits.

P.S.: Physiological saline

D.W.: Distilled water

一方、生存例の症状は、皮下投与ではほとんどの例で投与翌日から3日目までに、他の経路では投与翌日までには消失し、正常状態に回復した。

3) 体重の推移

静脈内投与では、投与翌日、雄では低用量群の数例に、雌では用量と相関なく数例ないし半数例に体重減少が見られ、その後も、一過性の体重減少あるいは増加抑制を示す動物が散見された。

腹腔内投与では、投与翌日に用量と相関なく雌雄の半数ないし全例に、皮下投与の雄では各群の大多数ないし全例が、雌では用量と相関なく数例ないし多数例が投与2日目に、一過性の体重減少あるいは増加抑制を示し、その後も一部の動物は暫時体重減少を示した。その他、腹腔内投与では、一過性の体重減少あるいは増加抑制を示す動物も散見された。

経口投与では投与翌日ないし2日目に高用量群の半数ないし多数例に体重減少あるいは

Acute toxicity study of cefodizime sodium

増加抑制が見られた。

しかしながら、いずれの投与経路の生存例とも、実験終了時にはほぼ順調な体重増加を示していた。

なお、筋肉内投与では、本剤投与の影響は何ら観察されなかった。

4) 剖検所見

静脈内投与の死亡例では、脳表面の出血が見られた。

腹腔内投与の死亡例では、脳表面の出血、腹腔内液体貯留および腹腔内壁に暗赤色点の散在が見られた。

皮下投与の死亡例では、脳表面の出血、投与部皮下の液体の貯留および出血が認められた。

経口投与の死亡例では、何ら異常は観察されなかった。

一方、生存例では、皮下投与の極く一部の動物に盲腸の拡張および投与部皮下の出血が見られた。他の投与経路においては特記すべき所見は見られなかった。

3. 幼若ラット

1) LD₅₀値

雄5278 (4978-5552) mg/kg, 雌5314mg/kg (信頼限界算出不能)であった (Table 3)。

2) 一般状態

早いものでは投与後10分頃より呼吸数の減少が、40分頃より投与部位のうっ血が観察されるようになり、投与後5時間頃には、うっ血はほぼ全例に、呼吸数の減少は雄低用量群

Table 3 Acute subcutaneous toxicity of THR-221 in 5-day-old rats

Dose (mg/kg)	Concentration (%)	Mortality (Dead/treated)		LD ₅₀ (mg/kg)	
		Male	Famale	Male	Female
4000		0 / 8	—		
4500		1 / 8	—		
5000		1 / 8	0 / 8		
5250		6 / 8	6 / 8		
5500	25	7 / 8	7 / 8	5278	5314
5750		5 / 8	5 / 8	(4978-5552)	(N.C.)
6000		5 / 8	5 / 8		
6500		8 / 8	8 / 8		
7000		—	7 / 8		
8000		—	8 / 8		

The LD₅₀ values were calculated by the probit method. Figures in parentheses represent the 95% confidence limits.

Vehicle:Physiological saline

N.C. :Not calculated

を除く各群の半数例以上に観察された。また、上述の症状に加え雌雄の中間用量以上では投与2ないし3時間後より半数例以上の動物が苦悶状態を示すようになり、さらに、一部の動物では外刺激に対する反応が消失し、投与後3.5時間から翌日までの間に死亡した。

一方、生存例の症状は、投与翌日以降は消失し、その後著変は認められなかった。

3) 体重の推移

投与翌日、中間用量以上の投与群で、一過性で軽度の体重減少あるいは増加抑制が見られたが、その後はほぼ順調な体重増加を示した。

4) 剖検所見および組織学的検査

剖検時、死亡例全例に、投与部皮下の出血が観察され、組織学的検査では皮下出血と共に浮腫、皮筋の萎縮および変性が認められた。

一方、生存例では特記すべき変化は見られなかった。

4. イヌ

1) LD₅₀値

生理的技術的に投与可能な最大用量と考えられる5000mg/kgを投与しても死亡例は見られず、LD₅₀値は5000mg/kg以上であった (Table 4)。

Table 4 Acute intravenous toxicity of THR-221
in male dogs

Dose (mg/kg)	Concentration (%)	Mortality (Dead/treated)	LD ₅₀ (mg/kg)
2500	40	0 / 3	>5000
5000		0 / 3	

Vehicle:Physiological saline

2) 一般状態

投与中～直後に一過性の流涎、嘔気または泡沫状消化液の嘔吐が見られ、さらに高用量群では、投与後20～30分頃から鼻端の乾燥が観察された。この症状は、投与4時間以降は消失した。また、投与翌日、高用量群のそれぞれ1例に軟便あるいは粘液便の排泄が見られた。しかし、この症状も投与2日後までには消失し、その後は一般状態に変化は見られなかった。

3) 体重および摂餌量

本剤投与による影響は見られなかった。

4) 尿検査

本剤投与による影響は認められなかった。

5) 血液学的検査

白血球数の増加および赤血球数、Hb量、Ht値および血小板数の減少ないし減少傾向が見

Table 5 Hematological findings in beagle dogs given a single intravenous injection of THR-221

Item	THR-221 2500 mg/kg							THR-221 5000 mg/kg								
	Time after injection(hr) Animal No.		0	1	4	8	24	72	Time after injection(hr) Animal No.		0	1	4	8	24	72
WBC (1.0E9/l)	00002		9.0	12.4	13.9	11.6	9.2	8.2	00005		10.6	11.8	16.4	14.7	11.3	10.5
	00003		10.8	12.4	13.5	13.7	9.3	11.4	00006		12.1	11.8	16.0	16.1	13.8	12.3
	00004		13.3	13.5	13.9	14.6	10.3	8.5	00007		12.1	19.1	17.9	17.4	12.4	11.1
	00002		6.08	5.84	6.25	6.46	5.83	5.85	00005		6.06	5.73	5.46	5.35	5.21	5.16
RBC (1.0E12/l)	00003		6.60	5.75	5.93	5.96	6.03	6.10	00006		6.53	6.97	6.56	6.17	5.93	6.21
	00004		6.14	5.88	5.87	5.90	5.45	6.09	00007		7.30	7.39	6.70	6.65	6.46	6.82
	00002		13.7	12.7	14.0	14.4	13.1	13.2	00005		13.4	12.6	12.1	12.0	11.5	11.6
	00003		14.1	12.6	12.9	12.9	13.1	13.4	00006		14.4	15.1	14.3	13.5	13.1	13.5
Hb (g/dl)	00004		13.5	13.1	13.0	13.2	12.0	13.3	00007		15.8	15.7	14.2	14.1	13.6	14.3
	00002		39.0	36.3	41.3	43.0	38.1	38.1	00005		38.0	35.0	35.1	35.4	34.6	33.9
	00003		42.0	36.3	37.9	38.8	38.0	40.1	00006		42.2	42.5	42.3	40.5	38.8	39.4
	00004		39.9	37.5	38.1	39.3	37.0	39.0	00007		46.1	44.8	42.6	42.8	41.3	42.5
PLAT (1.0E9/l)	00002		297	334	298	309	296	300	00005		290	131	259	272	124	142
	00003		366	330	322	376	373	382	00006		278	161	158	207	154	211
	00004		308	288	310	308	326	371	00007		252	275	248	317	316	363
	00002		297	334	298	309	296	300	00005		290	131	259	272	124	142

Table 5 Continued

Item	Time after injection(hr) Animal No.	THR-221 2500 mg/kg						Time after injection(hr) Animal No.	THR-221 5000 mg/kg					
		0	1	4	8	24	72		0	1	4	8	24	72
MCV (fl)	00002	64	62	66	67	65	65	00005	63	61	64	66	66	66
	00003	64	63	64	65	63	66	00006	65	61	64	66	65	63
	00004	65	64	65	67	68	64	00007	63	61	64	64	64	62
MCH (pg)	00002	22.5	21.7	22.4	22.3	22.5	22.6	00005	22.1	22.0	22.2	22.4	22.1	22.5
	00003	21.4	21.9	21.8	21.6	21.7	22.0	00006	22.1	21.7	21.8	21.9	22.1	21.7
	00004	22.0	22.3	22.1	22.4	22.0	21.8	00007	21.6	21.2	21.2	21.2	21.1	21.0
MCHC (%)	00002	35.1	35.0	33.9	33.5	34.4	34.6	00005	35.3	36.0	34.5	33.9	33.2	34.2
	00003	33.6	34.7	34.0	33.2	34.5	33.4	00006	34.1	35.5	33.8	33.3	33.8	34.3
	00004	33.8	34.9	34.1	33.6	32.4	34.1	00007	34.3	35.0	33.3	32.9	32.9	33.6
Retic. (%)	00002	18	12	8	12	9	10	00005	18	9	11	12	14	13
	00003	11	13	9	10	16	8	00006	11	11	12	11	9	11
	00004	12	8	9	9	13	14	00007	18	17	18	14	15	19

Table 6 Biochemical findings in beagle dogs given a single intravenous injection of THR-221

THR-221 2500 mg/kg										THR-221 5000 mg/kg						
Item	Time after injection(hr) Animal No.	0	1	4	8	24	72	168	Time after injection(hr) Animal No.	0	1	4	8	24	72	168
GOT (IU/l)	00002	24	37	52	40	27	30	27	00005	32	52	53	47	34	40	38
	00003	27	38	40	34	33	39	34	00006	30	326	304	316	232	36	36
	00004	25	39	36	33	29	37	35	00007	27	48	56	48	38	36	34
GPT (IU/l)	00002	32	29	73	74	61	52	44	00005	42	41	46	44	49	51	47
	00003	28	30	32	35	36	37	34	00006	40	300	438	576	1039	447	164
	00004	38	42	48	46	45	49	50	00007	26	30	35	38	44	36	36
LDH (IU/l)	00002	71	128	102	98	78	82	78	00005	87	166	153	74	80	77	80
	00003	78	136	122	113	87	94	91	00006	78	930	536	296	113	74	98
	00004	89	146	78	59	78	87	97	00007	116	230	200	117	92	98	96
ALP (IU/l)	00002	177	258	167	166	176	181	182	00005	189	222	163	154	174	188	184
	00003	252	258	222	207	257	275	277	00006	310	435	327	273	318	318	333
	00004	222	222	206	201	208	194	199	00007	198	241	216	179	231	228	216
ChE (ΔpH)	00002	0.512	0.370	0.541	0.561	0.496	0.508	0.522	00005	0.622	0.638	0.630	0.638	0.610	0.598	0.630
	00003	0.382	0.354	0.370	0.378	0.386	0.382	0.343	00006	0.602	0.642	0.671	0.630	0.581	0.622	0.647
	00004	0.443	0.451	0.492	0.463	0.447	0.463	0.460	00007	0.472	0.520	0.541	0.545	0.472	0.472	0.530

Table 6 Continued

		THR-221 2500 mg/kg							THR-221 5000 mg/kg							
Item	Time after injection(hr) Animal No.	0	1	4	8	24	72	168	Time after injection(hr) Animal No.	0	1	4	8	24	72	168
TP (g/dl)	00002	5.23	7.15	5.71	5.62	5.26	5.25	5.23	00005	5.49	9.15	5.90	5.32	5.37	5.18	5.22
	00003	5.65	6.87	5.68	5.50	5.61	5.52	5.53	00006	5.35	10.43	6.07	5.13	4.97	5.10	5.20
	00004	5.54	7.05	5.91	5.67	5.60	5.55	5.43	00007	5.52	10.26	6.30	5.57	5.43	5.32	5.56
ALB (g/dl)	00002	3.14	4.31	3.44	3.45	3.12	3.22	3.09	00005	2.97	4.85	3.24	2.89	2.93	2.90	3.05
	00003	3.37	4.12	3.43	3.43	3.44	3.41	3.40	00006	3.39	6.65	3.83	3.25	3.12	3.18	3.28
	00004	2.98	3.71	3.16	2.98	2.97	3.04	3.00	00007	2.98	5.44	3.61	3.20	2.94	3.09	3.22
A/G	00002	1.50	1.52	1.51	1.59	1.46	1.58	1.44	00005	1.18	1.13	1.22	1.19	1.20	1.27	1.40
	00003	1.48	1.50	1.52	1.66	1.59	1.62	1.60	00006	1.73	1.76	1.71	1.73	1.68	1.66	1.71
	00004	1.16	1.11	1.15	1.11	1.13	1.21	1.23	00007	1.17	1.13	1.34	1.35	1.18	1.39	1.38
T.Bil (mg/dl)	00002	0.17	0.37	0.22	0.20	0.14	0.14	0.13	00005	0.16	0.52	0.25	0.19	0.16	0.14	0.15
	00003	0.17	0.35	0.24	0.28	0.19	0.16	0.14	00006	0.15	0.65	0.26	0.20	0.15	0.14	0.14
	00004	0.13	0.30	0.16	0.16	0.18	0.15	0.15	00007	0.23	0.63	0.33	0.28	0.20	0.18	0.18
Urea-N (mg/dl)	00002	13.0	13.7	13.9	13.1	16.0	11.8	14.6	00005	15.5	12.1	12.4	13.3	17.6	14.1	15.2
	00003	15.6	13.5	14.0	15.4	17.3	14.9	13.0	00006	14.1	12.2	12.1	11.5	17.0	13.6	14.8
	00004	11.4	10.8	11.2	10.3	18.2	10.8	12.1	00007	15.0	12.1	11.3	11.0	15.2	12.4	12.6

Table 6 Continued

Item	Time after injection(hr) Animal No.	THR-221 2500 mg/kg								THR-221 5000 mg/kg							
		0	1	4	8	24	72	168	Time after injection(hr) Animal No.	0	1	4	8	24	72	168	
γ -GTP (IU/l)	00002	3.3	2.5	3.6	3.0	3.0	3.2	3.2	00005	4.3	4.7	4.0	4.1	4.7	4.9	4.4	
	00003	2.5	2.2	2.9	2.5	2.7	3.1	2.9	00006	3.5	4.8	4.1	3.8	4.3	4.6	3.5	
	00004	3.0	3.2	3.0	3.0	4.3	3.8	3.1	00007	2.7	3.7	3.0	2.8	3.4	3.4	2.6	
GLU (mg/dl)	00002	108.0	105.0	91.2	85.3	99.4	107.7	101.1	00005	103.4	91.1	92.5	87.0	103.3	97.9	106.0	
	00003	103.6	108.9	89.7	85.7	103.0	98.3	100.1	00006	108.1	129.9	98.6	99.4	108.4	105.2	105.6	
	00004	112.3	100.0	95.1	82.2	98.1	103.2	92.3	00007	104.0	124.9	99.0	92.8	106.8	109.5	109.0	
T.Cho (mg/dl)	00002	156.5	139.6	154.1	165.0	155.4	163.9	161.8	00005	220.1	214.5	206.9	215.4	223.4	223.0	228.7	
	00003	158.0	141.5	145.8	151.4	156.0	157.0	161.3	00006	196.3	190.1	193.4	184.2	191.7	196.9	194.7	
	00004	203.9	205.0	218.1	217.3	202.3	204.2	185.0	00007	120.9	129.1	126.4	125.1	122.9	112.5	131.2	
F.Cho (mg/dl)	00002	42.4	37.1	39.7	43.8	43.7	43.0	42.1	00005	62.6	59.5	57.0	60.5	65.8	61.5	62.8	
	00003	43.8	37.6	39.2	42.0	43.3	43.0	44.4	00006	51.4	51.4	51.6	50.2	56.3	52.8	51.7	
	00004	54.8	55.6	58.7	60.8	57.3	55.7	50.0	00007	32.9	36.2	33.1	34.1	38.3	30.4	37.1	
EST/T	00002	0.73	0.73	0.74	0.73	0.72	0.74	0.74	00005	0.72	0.72	0.72	0.72	0.71	0.72	0.73	
	00003	0.72	0.73	0.73	0.72	0.72	0.73	0.72	00006	0.74	0.73	0.73	0.73	0.71	0.73	0.73	
	00004	0.73	0.73	0.73	0.72	0.72	0.73	0.73	00007	0.73	0.72	0.74	0.73	0.69	0.73	0.72	

Table 6 Continued

Item	Time after injection(hr) Animal No.	THR-221 2500 mg/kg							THR-221 5000 mg/kg							
		0	1	4	8	24	72	168	Time after injection(hr) Animal No.	0	1	4	8	24	72	168
CRN (mg/dl)	00002	0.67	1.04	0.77	0.68	0.67	0.75	0.65	00005	0.75	1.22	0.88	0.72	0.72	0.71	0.73
	00003	0.68	1.00	0.85	0.75	0.74	0.72	0.67	00006	0.68	1.27	0.75	0.60	0.59	0.61	0.62
	00004	0.52	0.81	0.64	0.52	0.59	0.57	0.58	00007	0.70	1.18	0.78	0.60	0.67	0.67	0.64
UA (mg/dl)	00002	0.45	0.53	0.46	0.44	0.40	0.46	0.39	00005	0.47	0.52	0.44	0.39	0.43	0.38	0.42
	00003	0.40	0.51	0.49	0.51	0.45	0.44	0.42	00006	0.43	0.75	0.53	0.45	0.46	0.43	0.39
	00004	0.52	0.56	0.41	0.37	0.62	0.40	0.46	00007	0.46	0.76	0.64	0.46	0.58	0.40	0.44
Ca (mEq/l)	00002	4.81	4.96	4.95	5.02	4.86	4.91	4.87	00005	5.11	4.94	5.02	5.06	5.01	4.99	5.12
	00003	5.10	4.92	4.98	5.06	4.99	4.94	5.08	00006	5.11	4.86	5.04	5.00	4.93	5.12	5.26
	00004	4.74	4.91	4.84	4.86	4.84	4.90	4.85	00007	5.02	5.13	4.74	4.88	4.71	4.86	5.17
IP (mg/dl)	00002	5.19	6.35	7.05	7.33	6.14	5.43	5.69	00005	6.11	6.21	7.54	7.10	6.23	5.82	6.21
	00003	5.99	6.36	7.48	7.68	6.05	5.77	6.03	00006	6.15	5.30	8.57	7.30	6.30	6.13	6.18
	00004	4.47	5.39	6.44	5.76	5.32	4.55	4.74	00007	6.07	5.06	7.50	6.83	5.23	5.58	5.65

られた (Table 5)。

6) 血液生化学的検査

高用量群の1例では投与1時間後よりGOT, GPT, LDH活性の著しい上昇およびALP活性の上昇が認められた。これらの活性値の上昇は, ALP値は投与4時間後, GOTおよびLDH値は投与3日後には回復したが, GPT値の回復は遅れ, 14日後にはほぼ回復した。上記の1例を除く他の動物では, GOT, LDH, ALP活性の上昇および総蛋白, アルブミン, 総ビリルビン, クレアチニン量の増加と尿素窒素, 無機リン量の軽度の増加あるいは減少が, さらに, 低用量群の1例にGPT活性の上昇が, いずれも一過性に認められた (Table 6)。

7) 剖検, 臓器重量および組織学的検査

剖検時, 高用量群の1例では, 肝臓外側左葉に限局性の血腫様変化が観察された。血腫は, 直径3 mm以下で肝臓被膜下に複数個存在し, 周囲の肝実質は黄色を呈していた。この部位は, 組織学的には, 肉芽組織で被包された血腫で, その周囲には限局性の肝細胞の変性・萎縮・消失と結合組織および胆管の増殖, ヘモジデリンおよび石灰沈着が観察された。

その他には, 両投与群の動物ともに, 組織学的に軽度の出血およびマクロファージのヘモジデリン貪食像を示す投与部皮下の淡黄色化あるいは限局性出血が観察された以外, 本剤投与に起因したと考えられる変化は見られなかった。また, 臓器重量においては特記すべき変化は観察されなかった。

考 察

THR-221のマウス, ラット, 幼若ラットおよびイヌにおける急性毒性作用について検討した。

本剤のLD₅₀値は, マウス, ラット共に静脈内投与時に最も小さく, また, いずれの投与経路においても性差および種差は認められなかった。

一方, 幼若ラット皮下投与時のLD₅₀値は, 成熟ラットの約1/3で, 他のcephem系抗生物質 (森岡ら, 1980; 米田ら, 1980; 正谷ら, 1982) と同様に, 本剤の急性毒性作用は幼若ラットでより強く認められた。

なお, ラット経口投与, 筋肉内投与およびイヌ静脈内投与では, 生理的技術的投与可能な最大量を投与した結果, ラット経口投与時の高用量群の雌1例が死亡したのみで, いずれの実験ともLD₅₀値は算出できなかった。

本剤投与後に観察された主な一般状態の変化は, マウス, ラットとも, 自発運動の減少, 腹臥, 呼吸の異常, 失調性歩行, 間代性あるいは間代性一強直性痙攣, チアノーゼで, さらに, マウス経口投与では下痢が, ラット経口投与では流涎が観察された。一方, 幼若ラットの皮下投与では呼吸の異常, 苦悶状態, 外刺激に対する反応の消失, 投与部のうっ血が認められた。

上述した各種の症状は, 他のcephem系抗生物質 (森岡ら, 1980; 米田ら, 1980; 正谷ら, 1982) でも報告されており, 本剤特有と考えられる変化は見られなかった。

剖検所見では、マウス、ラットの死亡例に、脳表面の出血が認められた。同様の变化は、Cefotaxime（森岡ら，1980），Flomoxef（村岡ら，1987）でも報告されており，投与液の浸透圧の影響が示唆されている。その他，腹腔内投与では腹腔内液体貯留，腹腔内壁の暗赤色点の散在が観察され，皮下投与では，投与部皮下の液体または寒天状物の貯留および出血が認められた。また，マウス経口投与では消化管内の液体貯留および粘膜面の暗赤色斑の散在が見られた。

幼若ラットの死亡例では，投与部皮下に出血が見られ，組織学的に皮下出血，浮腫，皮筋の萎縮・変性が観察されたが，皮下出血は成熟ラットでも見られていることから本剤の刺激性によるものと考えられる。

イヌ静脈内投与では，投与中ないし投与直後に流涎，嘔気または嘔吐が観察された。

cephem系抗生剤による同様の症状の報告は多く（林ら，1975；渡辺ら，1970；二木ら，1976；正谷ら，1982），その発生機序について，山本ら（1975）は脳の嘔吐中枢への直接作用または嘔吐中枢への反射体である咽頭腔，舌根等に対する刺激を，渡辺ら（1970）は胆汁排泄された検体の胃への間接的刺激を推察している。本剤投与後に見られた嘔吐も一過性の症状であることから，上述した作用機序に基づくものと推察される。

血液学的検査では，白血球数の増加および貧血傾向が見られたが，この変化は，本剤投与により生じた投与部皮下の出血および炎症性変化に起因したものと考えられる。

血液生化学的検査では，高用量群の1例を除く他の動物では，GOT，LDH，ALP活性の上昇および総蛋白，アルブミン，総ビリルビン，クレアチニン量の増加と尿素窒素，無機リン量の軽度の増加あるいは減少が，さらに，低用量群の1例にGPT活性の上昇が，いずれも一過性に認められた。しかしながら，総蛋白，アルブミン，総ビリルビン，クレアチニンは薬剤干渉を検討した結果，プラスの誤差を生じることが認められ，さらに，同時に測定した本剤血中濃度と相関することから，生体変化を反映したものではないと推察される。また，GOT，GPT，LDHの変化は，米田ら（1980），正谷ら（1982）の報告でも見られており，本剤特有の変化とは考え難い。一方，高用量群の1例では，投与後GOT，GPT，LDHおよびALP活性の著しい上昇が認められた。この動物の肝臓では，上述の変化に相関していると考えられる外側左葉の限局性の血腫様変化が観察され，組織学的には肉芽組織で被包された血腫と，その周囲に限局性の肝細胞の変性・萎縮・消失と結合組織および胆管の増殖，ヘモジデリンおよび石灰沈着が観察された。この肝臓の変化は，この動物の外側左葉に限局しており，他の部位および他の臓器に類似病変はまったく認められておらず，さらに，他の動物では何ら異常は見られなかったことから本剤投与に起因した変化とは考え難い。従って，この動物で見られた血中逸脱酵素の上昇は偶発的变化と考えられる。

一方，投与部皮下では，炎症性変化が観察されたが，この変化は，ラット，マウス皮下投与時の変化と同様に，本剤の刺激性に基づくものと考えられる。

要 約

THR-221のマウス，ラット，幼若ラットおよびイヌにおける急性毒性作用について検討し，以下の成績を得た。

1. THR-221の各投与経路におけるLD₅₀値は，マウス静脈内投与時；雄7200（6260－8280）mg/kg，雌5000（4410－5680）mg/kg，腹腔内投与時；雄10500（9722－11340）mg/kg，雌11000（9565－12650）mg/kg，皮下投与時；雄17500（15542－19705）mg/kg，雌16500（14474－18810）mg/kg，経口投与時；雄28000（25480－30769）mg/kg，雌29000（26852－31320）mg/kg，ラット静脈内投与時；雄7000（6430－7620）mg/kg，雌8200（7350－9140）mg/kg，腹腔内投与時；雄9500（8559－10545）mg/kg，雌8800（8302－9328）mg/kg，皮下投与時；雄17000（15320－18870）mg/kg，雌15500（14090－17050）mg/kg，経口投与時；雌雄共20000mg/kg以上，筋肉内投与時；雌雄共3200mg/kg以上，幼若ラット皮下投与時；雄5278（4978－5552）mg/kg，雌5314mg/kg（信頼限界算出不能），イヌ静脈内投与時；5000mg/kg以上であった。

2. 本剤投与後に観察された主な一般状態の変化は，マウス，ラットとも，自発運動の減少，腹臥，呼吸の異常，失調性歩行，間代性あるいは間代性－強直性痙攣，チアノーゼで，さらに，マウス経口投与では下痢が，ラット経口投与では流涎が観察された。一方，幼若ラットの皮下投与では呼吸の異常，苦悶状態，外刺激に対する反応の消失，投与部のうっ血が認められ，イヌ静脈内投与では嘔気または嘔吐，鼻端の乾燥，軟便あるいは粘液便の排泄が見られた。

3. 肉眼および組織所見では，マウス，ラットの死亡例に，脳表面の出血が認められ，さらに，腹腔内投与では腹腔内液体貯留，腹腔内壁の暗赤色点の散在が観察され，皮下投与では，投与部皮下の液体または寒天状物の貯留および出血が認められた。また，マウス経口投与では消化管内の液体貯留および粘膜面の暗赤色斑の散在が見られた。

幼若ラット死亡例では，投与部皮下の出血が見られ，組織学的に皮下出血，浮腫，皮筋の萎縮・変性が観察された。

4. イヌ静脈内投与時の血液学的検査では，白血球数の増加および貧血傾向が見られ，血液生化学的検査では，GOT，LDHおよびALP活性の上昇および尿素窒素，無機リンの軽度の増加あるいは減少が，さらに，低用量群の1例にGPT活性の上昇が，いずれも一過性に認められた。

5. イヌ静脈内投与時の肉眼および組織所見では，投与部皮下に軽度の炎症性変化が観察された。

文 献

林 裕造，松浦 稔，奈良 博，他（1975）：Sodium CephalothinのBeagle犬における急性および亜急性毒性試験. Jap. J. Antibiotics, 28, 205－230.

- 正谷博之, 中村昌三, 河村泰仁, 他 (1982): T-1982の毒性試験 (第1報) —マウス, ラットおよびイスでの急性毒性試験—. *Chemotherapy*, **30** (S-3), 232-241.
- 森岡 浩, 林 昌亮 (1980): Cefotaximeの急性毒性ならびに亜急性毒性. *Chemotherapy*, **28** (S-1), 98-108.
- 村岡義博, 矢原 功, 渡辺 弘, 他 (1987): Oxacephem系抗生物質6315-S (Flomoxef) のラットにおける急性ならびに1ヵ月亜急性毒性試験. *Chemotherapy*, **35** (S-1), 207-225.
- 二木力夫, 塩田 尚, 宇佐美正義, 他 (1976): Ceftezoleの一般毒性および胎仔への影響. *Chemotherapy*, **24** (4), 671-701.
- 渡辺信夫, 岩波黄葵, 藤井登志之 (1970): Cefazolin sodiumの毒性および胎仔への影響, *Chemotherapy*, **18** (5), 528-543.
- 山本研一, 内海静夫, 沢田 享, 他 (1975): Cephalothin (CET) の中枢神経系に及ぼす影響, イスによる解析. *Jap. J. Antibiotics*, **28**, 249-262.
- 米田豊明, 正谷博之, 柴田哲夫, 他 (1980): Cefoperazone (T-1551) の毒性試験 (第1報). —マウス, ラットおよびイスでの急性毒性試験—. *Chemotherapy*, **28** (S-6), 179-188.